

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号
特表2000-500915
(P2000-500915A)

(43) 公表日 平成12年1月25日 (2000.1.25)

(51) Int.Cl.*

H 01 J 49/10
G 01 N 27/62
27/64

識別記号

F I

H 01 J 49/10
G 01 N 27/62
27/64

テーマコード (参考)

G
B

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求(全39頁)

(21) 出願番号 特願平10-514750
(86) (22) 出願日 平成9年9月19日 (1997.9.19)
(85) 翻訳文提出日 平成10年5月19日 (1998.5.19)
(86) 國際出願番号 PCT/US97/16115
(87) 國際公開番号 WO98/12734
(87) 國際公開日 平成10年3月26日 (1998.3.26)
(31) 優先権主張番号 08/710, 565
(32) 優先日 平成8年9月19日 (1996.9.19)
(33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 シークエノム・インコーポレーテッド
アメリカ合衆国、カリフォルニア・92121、
サン・ディエゴ、ソレント・パリー・ロー
ド・11555
(72) 発明者 ヒレンカンプ、フランツ
ドイツ国、デー・48147・ミュンスター、
バールマン・シュトラーゼ・5
(72) 発明者 ロイター、デイルク
ドイツ国、22457・ハンブルク、ツイルバ
ーベルクシュトラーゼ・1
(74) 代理人 弁理士 川口 義雄 (外1名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 MALDI分析の方法および装置

(57) 【要約】

マトリックス支援レーザ脱離／イオン化は、脱離した材料のブルーム中の大きなアナライトイオンを分光分析のために熱平衡化するよう行われる。熱平衡化されたイオンは、低平均速度または零平均速度を有し、明確に定義された瞬間に生成され、そのためアーチファクトが低減され、スペクトルピークが先鋭化される。一実施形態では、カバー、パッフル、またはコンパートメントを有するマトリックスまたはサンプルホルダへ光が送られる。パッフルまたはコンパートメントは脱離材料のブルームを妨害しあるいは閉じ込め、アナライトは衝突を受けその平均速度および指向性を低下させる。したがって、「熱平衡化された」アナライトイオンが質量分析計器に渡される。好ましい実施形態では、光ファイバが、試料が配置された薄い透明プレートに突き合わされ、マトリックス側は真空加速チャンバ内に配置される。機械的ステージが試料をx方向とy方向の両方へ移動させ、放射を受ける試料上の点を選択する。光ファイバ照射器を使用すると、ステージアセンブリ全体をほぼ従来型のステージの寸法内に包含することができる。他の実施形

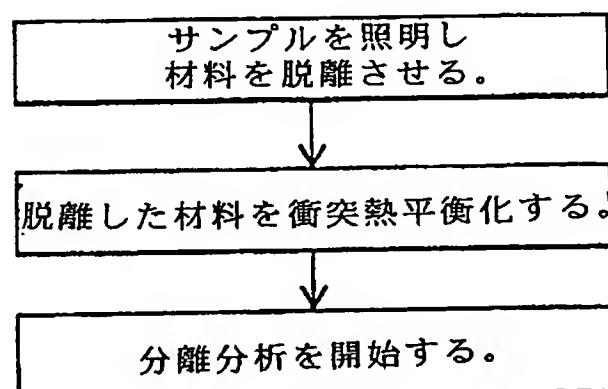


FIG. 2

【特許請求の範囲】

1. アナライト材料のマトリックス支援レーザ脱離／イオン化（M A L D I）を行うための改良された方法であって、

マトリックスおよびアナライトが支持体上のサンプルとして堆積される、大部分のマトリックス材料と小部分のアナライト材料とで構成された試料を調製するステップと、

アナライトを含む材料がサンプルの表面から脱離されイオン化されるように前記マトリックスを照射するステップと、

脱離運動量が衝突相互作用によって少なくとも部分的に方向に関してランダム化されるように、前記脱離した材料を初期的に閉じ込めておき、

それによって、脱離したアナライトを調整し、分析の初期条件を制御するステップとを含む方法。

2. さらに、前記脱離材料を閉じ込めておく間に衝突バッファガスを与えるステップを含み、前記衝突バッファガスが、

i) 衝突脱離と、

ii) 化学イオン化と、

iii) アナライトとの分子間反応またはイオン分子間反応

のうちの少なくとも一つを推進する特性を有するガスから選択される請求の範囲第1項に記載の改良された方法。

3. 照射ステップが、光ファイバから出力されたビームを用いて照射を行うステップを含む請求の範囲第1項に記載の方法。

4. 照射ステップが、サンプル上のファイバ出力端部により像を造ることによって行われる請求の範囲第3項に記載の方法。

5. 照射ステップが、サンプルを保持する光透過性基板の近くにファイバを置き基板を通して照射することによって直接行われる請求の範囲第3項に記載の方法。

6. 閉込めステップが、バッフルを用いて閉めることによって行われる請求の範囲第1項に記載の方法。

7. 閉込めステップが、部分的に閉鎖されたコンパートメントに閉じ込めてることによって行われる請求の範囲第1項に記載の方法。
8. 閉込めステップが、前記脱離材料を多孔性材料層中を通過させることを含む請求の範囲第1項に記載の方法。
9. 前記多孔性材料層が基板である請求の範囲第8項に記載の方法。
10. 閉込めステップが、前記試料を支持体上に透過床として

付着させ、脱離した材料が支持体によって閉じ込められるように床の下側を照射することによって実行される請求の範囲第1項に記載の方法。

11. 閉込めステップが、少なくとも一つの電位画定構造を用いて閉込めを行うことを含み、前記電位画定構造が、前記イオンを衝突相互作用によって初期熱平衡化するのに有効な滞留時間を与える電圧として選択された電圧を有する請求の範囲第1項に記載の方法。

12. 閉込めステップが、前記材料が脱離した後に続く遅延の後にのみ抽出電圧を印加し、それによって、脱離材料の、衝突を受けた部分のみを抽出またはサンプリングすることによって行われる請求の範囲第1項に記載の方法。

13. マトリックス支援レーザ脱離イオン化材料をサンプリングする方法であつて、

マトリックスを照射し材料を脱離させるステップと、
前記材料を、脱離材料を少なくとも部分的に熱平衡化するのに有効な透過バリア中を通過させ、それによって、前記材料を分析するための初期条件を制御するステップとを含む方法。

14. 質量分光計などの分析計器にイオン化された材料サンプルを与える装置であつて、

前記サンプルを与える試料を保持するステージと、
試料を照射し、材料をサンプルから脱離させかつイオン化し、それによって、脱離した材料に指向性運動量を有させるためにステージに向けられた手段と、
前記材料中の大きな分子の速度が低下するように前記指向性運動量を少なくと

も部分的に熱平衡化するのに十分な程度に前記脱離材料を閉じ込め、

速度の低下した大きな分子を分析計器に与えるために分析計器と出口連通する閉込め手段とを備える装置。

15. ステージに向けられた手段が、前記試料上の所定の領域を照射するために前記試料から離隔された光ファイバを含む請求の範囲第14項に記載の装置。

16. 前記ステージおよび前記ファイバが、照射位置を超えた前記試料の所定の領域を選択的に走査し前記試料の部分をサンプリングするために相互に相対運動できるように取り付けられる請求の範囲第15項に記載の装置。

17. 閉込め手段が、前記出口への経路を横切る多孔性材料を含む請求の範囲第14項に記載の装置。

18. 閉込め手段が、脱離した材料を限られた領域に維持し、前記出口の前の衝突相互作用を強化する静電手段を含む請求の範囲第14項に記載の装置。

19. ステージが、前記試料に隣接する平坦な電界を画定する導電領域を含む請求の範囲第14項に記載の装置。

20. 大分子アナライトのマトリックス支援レーザ脱離を行う装置であつて、
ステージの所定の領域内の基板上にサンプルを保持する手段を含む支持ステー
ジと、

光入力を受け取るために光源に結合するようになされた第1の端部と、サンプ
ル上のスポット領域を照射するために前記ステージによってある位置に保持され
た第2の端部とを有する光ファイバとを備え、ステージが、出力ビームが基板を
通過し、所定の寸法のスポットを含むサンプル上の前記スポット領域を、サンプ
ルからアナライトを脱離させるのに有効なフルエンスで直接照射するように第2
の端部を位置決めする装置。

21. サンプルの別々のスポット領域のアレイを照射するように構成されたアレ
イ状の複数の光ファイバを備え、各ファイバが、それぞれの異なる時間にサンプ
ルのそれぞれのスポット領

域から材料を脱離させるように別々に作動させることができ、そのため、複数の

脱離アナライトサンプルを、連続する瞬間に共通の質量分析器に与えることができる請求の範囲第20項に記載の装置。

22. ステージが、基板をサンプルと共に、光ファイバの第二の端部に対して少なくとも二つの側面の次元において移動させて光をサンプル上の任意の位置に当て材料を脱離させるように動作する請求の範囲第20項に記載の装置。

【発明の詳細な説明】

M A L D I 分析の方法および装置

発明の背景

本発明は、マトリックス支援レーザ脱離／イオン化質量分光分析（M A L D I - M S）に関する。K a r a s およびH i l l e n k a m p が1988年に紹介したこの方法は、バイオポリマーや、ペプチド、タンパク質、D N A 断片などの物質の質量を求める方法として確立された。この方法では、分析すべき物質を通常、マトリックス材料の溶液に入れ支持体上に被覆する。溶質が蒸発し、個体マトリックス状のアナライト(analyte)が残る。次いで、このアナライトを照射し、アナライト分子または合成ポリマーを脱離させる。この脱離プロセスは質量分光計または分離および検出用の同様な計器に対して特に、焦げや分断を起こさず、あるいは薬品による劣化を生じさせずに大きな生物分子を放出するのに有用である。

一般的なM A L D I 質量分析の構成では、サンプルを金属基板上に置き、イオンアナライザに対向する側から放射する（「頂部照射」）。この構成に対して、サンプルの背面を透明な基板

を通じて、たとえば焦点を合されたレーザ光線によって照射する透過照射も可能である。どちらの場合も、ニコチン酸、安息香酸、ケイ皮酸など比較的低い分子量の芳香有機物質からなるマトリックスが、分析すべきある量のペプチド、タンパク質、またはその他の物質を保持し、高強度のレーザ光線を放射され、サンプルの表面からアナライトを脱離させる。代表的な質量分析構成では、アナライトのイオンが電界加速を受け、タイムオブフライト（T O F）質量分光計などの計器で質量分離される。レーザ放射としては、マトリックスがレーザ波長で強力に材料を吸収し、外面に吐出プルーム（plume）を与えるのに十分な速さで材料を脱離させるような放射が選択される。しかし、レーザ波長はアナライトの結合を破壊しないほど長く、脱離プロセスでは熱が使用されず、したがって大きな分子がほとんど変化なしに分光計に与えられる。比較的軽いマトリックス材料から大きな分子を脱離させ、あるいは吐出するメカニズムは極めて一般的なものであり

、これによって質量が数十キロダルトン (kilo Dalton) または数百キロダルトンであるアナライトを検出することができる。様々なマトリックス材料から脱離させるある種の物質を調製する様々な技法によってこの技法の有用

性が拡張されている。

従来型の計器において、標準構成では、照射と質量分析が共にサンプルの同じ側から行われる。このため、大きな分子イオンの収量が比較的高く、質量分解能が良好になる。直径 50 マイクロメートルないし 100 マイクロメートルの照射スポットサイズが $10^6 \sim 10^7 \text{ W/cm}^2$ の範囲の照射レベルと共に使用され、基本的に少量のサンプルが吐出され、分析のために材料の短く高速のプルームが与えられている。そのような計器を使用する有機大分子スペクトルに関する多数の文献が発表されている。それにもかかわらず、いくつかの高電圧電極を有する真空フライトチャンバ内にイオン抽出加速光学系を設け、材料を分析検出器へ加速するという構成要件のために、レーザ照射光線の光路が制約されており、そのため、計器は比較的コストが高く融通性に欠ける。さらに、初期イオン源として比較的高エネルギーのプルームを与えると、イオンの初期バーストの速度および空間位置の広がりが生じ、イオンがまた、プルームの空間的広がりのために異なる電界を受け、したがって、計器によるアナライトの収量は良好であるが、質量分解能は低下する。一般に、マトリックス分子は内部基準ピークを与える。し

かし、アナライトは多くの場合、マトリックス分子よりも質量が何倍も大きく、脱離のメカニズムが完全には解明されていないので、得られるスペクトルには、質量測定の精度と独立に生成されるスペクトルとの将来の比較とを困難にする、最初のプルーム形状または放出ダイナミクスのために生じる認識されないシフトやその他のアーチファクト (artifact) が含まれる可能性もある。

様々な研究者が、それぞれの異なる材料および一つまたは複数のマトリックス組成の透過M A L D I を開発しており、いくつかの条件の下で、より一般的な頂部照射を使用して蓄積された結果と同様な結果を得ることに成功している。一般に、照射と質量分析計器をマトリックスのそれぞれの対向側に分離することによ

って、より自由ないくつかの異なる計器設計を実施することができる。特に、特定のスポットまたはサンプル位置を選択的に分析できるようにする走査構成を実施することができる。さらに、画定された表面からイオンを脱離させることができれば、より鮮鋭なスペクトルを生成することができる。しかし、頂部照射構成から透過照射構成に切り換える際、脱離技法の基本となるいくつかの基本的なプロセスの性質を変更する必

要がある。したがってたとえば、プルームの形状、放出時の分子またはイオンの速度または方向、放出の基本的なメカニズムまたは収量はすべて、照射／脱離構成の変化の影響を受ける恐れがある。透過照射を使用した実験は比較的少なく、これらは一般に、頂部照射よりもスペクトルの質が低く、限られた範囲の比較的軽いアナライト分子でしか行われていない。

材料が脱離する基本メカニズムは完全には解明されておらず、その効果は材料に応じて変わる。一般に、測定を行うときは、適切な電界または磁界、あるいはその両方を設定し、あるいはその他の方法でサンプル窓を画定することによって分析器を調整し、次いでマトリックスを照射し、分光計が脱離したイオンの検出を開始するまでフルエンスを漸次高めていく。その場合、一般に、フルエンスをいくらか高め、脱離した材料中に存在する重いアナライトの量を増加させることができるが、材料の焦げや分断を導入するほど増加させてはならない。一般に、照射フルエンスを高めると、放出される材料の量が増加する。しかし、前述のように、質量分解能は最初は制限され、初期速度の増大する広がりや、放出プルームの不規則な形状や、その他の要因の影響を受ける。

したがって、結果的に得られるスペクトルが、同様な化合物の頂部照射で得られるMALDIスペクトルと同じであり、あるいはそのようなMALDIスペクトルと相関付けられる透過MALDI方法または装置を提供することが望ましい。

また、分析サンプルを脱離させる新しいMALDIステージまたはメカニズムを提供することが望ましい。

また、ピークが改良され質量分解能が向上したMALDI分光プロセスを提供することが望ましい。

発明の要約

一つまたは複数の上記の望ましい目的は、分光分析システムに定義された瞬間に低平均速度または零平均速度を有するアナライトイオンを注入するようにマトリックス支援レーザ脱離分析を行うことにより、本発明によって達成される。一実施形態では、カバー、バッフル、またはコンパートメントを有するマトリックスまたはサンプルホールダヘレーザ光が送られる。レーザはマトリックスの、好ましくは比較的大きなスポットを、 10^6 W/cm^2 の範囲のフルエンスで照射し、アナライトおよびマトリックス材料を脱離させ、プルームとして放出させる。

バッフルまたはコンパートメントはプルームを妨害しあるいは閉じ込め、比較的高密度のアナライトとマトリックスとを含む領域を瞬間的に画定する。アナライトは、マトリックスよりも分子量が数十倍ないし数千倍高く、衝突を受けて低平均速度または零平均速度を達成する。したがって、「熱平衡化された」アナライトイオンはバッフル領域から移され、従来型の質量分析を受ける。

本発明を実施するうえで有用なステージの好ましい実施形態では、レーザ照射は、ガスレーザ、ハイブリッド周波数多重化レーザ構成、高出力レーザダイオードアレイ、またはダイオード励起された源から入力端で照射を受けることができる光ファイバの出力端から与えられる。光ファイバの端部は、サンプルが配置された薄い透明プレートに突き合わされ、サンプルは、真空加速チャンバ内のファイバに対向するプレートの側に配置される。好ましくは、機械的ステージがプレートをx平面内方向とy平面内方向の両方へ移動し、サンプル、または放射を受ける所与のサンプル上の点を選択する。光ファイバ照射器を使用すると、ステージアセンブリ全体をほぼ従来型の計器ステージの寸法内に包含することができ、しかも明確に定義された強

度と高い一様性とを有する頑丈で正確な照射源が構成される。その場合、照射源からの射出がサンプルを照射し、質量分析器アセンブリに対向するプレートの表

面でアナライトを脱離させる。本発明の一態様によれば、プルームは、その極めて指向性の高い運動量がランダム化または「熱平衡化」されるように部分的に閉じ込められる。熱平衡化後、プルーム環境は低速イオンを含み、このイオンは分析器内で加速され、各特性電荷／質量成分が、分光検出ができるように明確に画定された間隔に分離される。

他の実施形態では、照射ファイバの端部にある領域を囲む小形のフェルール（ferrule）または毛細管状チューブエンクロージャで熱平衡化領域が画定される。マトリックスはチューブの円筒形内壁に沿って配設され、発散ファイバ出力によってマトリックスが照射される。このチューブは、脱離した材料が最初に吐出される出口への移動経路としての短いトンネルを備えると共に、脱離したアナライトを熱平衡化するための斜めの経路を備える。他の実施形態では、小形の差掛カバープレートまたはオーバハンギングカバープレートまたはせん孔カバープレートの形状を有するマイクロストラクチャが、放出されたアナライ

トを熱平衡化させるための滞留時間を延ばす閉じ込め、あるいは衝突相互作用を与える。そのような閉込めマイクロストラクチャは、結晶化プロセスを特にこのような構造を得るように制御する場合にはサンプル結晶と基板の表面とで形成することもできる。

この構造は、レーザ照射がプルームを形成し、そのプルームがコンパートメントに充満する二段放出構成を含むことができる。このコンパートメントは、照射プルームから移動した熱平衡化済みイオンが放出される際に通過する開口部を一枚の壁に有する。この二段構造では、照射と出口との間の距離が、大きな分子を熱平衡化できるほど長いが、T O F ピーク幅を広げない短い時間間隔でアナライトイオンを放出させることができるほど短い距離にされる。

図面の簡単な説明

本発明のこれらおよびその他の特徴は、本明細書の方法の代表的な実施形態の説明とその方法を実施するための例示的な装置の開示を、図面と共に検討することによって理解されよう。

第1図は、従来技術のM A L D I 分析技法を示す図である。

第2図は、本発明によるM A L D I 分析のステップを示す図

である。

第3A図は、透過M A L D I 分析のためのサンプル取付装置用の本発明による装置の基本実施形態を示す図である。

第3B図は、透過M A L D I 分析のための異なるサンプル取付装置用の本発明による装置の基本実施形態を示す図である。

第4A図は、第3A図の実施形態の動作段を示す図である。

第4B図は、第3B図の実施形態の動作段を示す図である。

第5A図は、第2の実施形態およびその動作を示す図である。

第5B図は、第2の実施形態およびその動作を示す図である。

第6A図は、頂部照射に関する第3の実施形態およびその動作を示す図である

。

第6B図は、頂部照射に関する第3の実施形態およびその動作を示す図である

。

第7図は、実験的なM A L D I 構成を示す図である。

第7A図は、実験的なM A L D I 構成を示す図である。

第8A図は、本発明を実施するための好ましいステージを示す図である。

第8B図は、本発明を実施するための好ましいステージを示す図である。

第9A図は、本発明の第4の実施形態を示す図である。

第9B図は、本発明の第4の実施形態を示す図である。

第10図は、ピンツール装置を概略的に示す図である。

第11図は、様々なピン形態を示す図である。

第11aは、真っ直ぐなヘッドを有する固体ピンを示し、第11bは、凹状ヘッドを有する固体ピンを示し、第11cは、角錐台状ヘッドを有する固体ピンを示し、第11dは、凹状ヘッドと（光ファイバを挿入するための）中空中央部とを有するピンを示し、第11eは、角錐台状ヘッドと中空中央部とを有するピンを示す。

第12A図は、取付装置を概略的に表す図である。

第12B図は、ピンツール装置を概略的に表す図である。

第12C図は、設置された取付装置およびツールの断面図である。

第13図は、第9A図ないし第9E図に示したピンツールの質量分光構成の概略図である。

第14図は、電圧が印加されるピンツールを概略的に示す図である。電界を印加すると、陽極に核酸が引き付けられる。このシステムはまた、荷電されない分子が溶液中に残り、それに

対して正に荷電された分子が陰極の方に引き付けられるので、核酸を浄化する。

第15図は、ポストバイオロジー取り込みを使用した質量分光による配列決定で使用されるステップのフローチャートである。

詳細な説明

第1図は、分子量がたとえば500ダルトンないし10000ダルトン以上の範囲である大分子化合物などの試料のマトリックス支援レーザ脱離およびイオン化用の代表的な従来技術の構成を示す。図のように、金属箔シートやガラススライドなどの基板3は、その表面上のある領域にサンプル2を保持する。前述のように、サンプル2は一般に、少量の大分子アナライトを含む分子量の比較的低いレーザ吸収材料の溶液として堆積され、このサンプルをそのまま乾燥させ、たとえば粒状結晶層または連続結晶層からなる薄い固体材料層を形成させる。特殊なケースでは、グリセリンなど、真空で安定な溶剤を使用する。サンプル2は次いで、基板3上に薄い液体層または滴を形成する。レーザ光線1をサンプル2に当て、サンプルから材料のプルーム4を脱離させる。一般に、マトリックス材料としては、低分

子量化合物、たとえば紫外線(UV)波長で脱離する芳香族化合物が選択され、レーザは、マトリックス材料を励起しマトリックス材料によって強く吸収される波長として選択された波長を有する。その場合、サンプルを照射すると、サンプルから材料が脱離し、この図に示したように照射部位から膨張するプルーム4が

形成される。大分子脱離のメカニズムは完全には解明されていないが、「熱」蒸発とは明らかに異なり、非常に高速の事象である。したがって、アナライトは、薬品による劣化を広範囲に生じさせずに周りの真空チャンバに進入する。しかし、さらに第1図に示したように、脱離した材料は非常に指向性が高く、図でベクトル V_1 で示した表面に垂直な方向に、大きな速度成分を有する。プルーム膨張速度は通常、毎秒500mないし1000m程度である。

典型的な分析プロセスでは、プルーム4中の脱離材料は、加速と質量依存透過を行う扇形走査分光計や四重走査分光計などの質量分光計、またはタイムオブフライ (TOF) 質量分析器に与えられる。一般に、プルーム中のサンプルが比較的少量であるため、収集効率が非常に低く、感度が不十分であり、扇形走査計器を設定するのは困難であるので、タイムオブフライ

ト計器が好ましい。

タイムオブフライト計器では、プルームの性質、プルーム生成段の構成、周囲の電極、電界強度に関するある仮定に基づいて分子の移動の動力学が大ざっぱにモデル化されている。そのようなモデルを設定すると、質量分解能 m/m は、初期速度広がりについて式を簡単にするためのいくつかの仮定を設けると、電極間隔に対する初期速度広がりおよびプルーム範囲に応じて変動する項を含む項の和の大きさとして近似することができる。基本的に、初期速度（エネルギー）広がり、プルーム範囲によって分子がそれぞれの異なる電界条件を受ける程度、イオンが脱離加速構成において衝突を受けあるいはターンアラウンド時間を経験する程度はすべて、検出器への到着時間のピークに広がりを導入する。

これらの問題は、第2図に記載したサンプルをレーザ脱離させイオン化させる方法により、本発明の基本的な態様によって対処される。一般に、サンプルは、従来技術とほぼ同様に、測定すべきアナライト材料を含む固体マトリックスからなり、レーザによって照射される支持体上に堆積される。第2図に記載したように、第1のステップとして、サンプルを照射し、サン

プルから材料を脱離させる。一般に、照射ステップは、継続時間が0.5ナノ秒

ないし200ナノ秒であり、直径が約10マイクロメートルないし数百マイクロメートルの照射スポットに当てられ、放射照度が 10^6 W/cm^2 以上の範囲であるレーザ放射の短いパルスによって行われ、脱離しイオン化した材料のプルームが形成される。上記で指摘したように、この脱離材料は最初、物理的なレーザ誘導脱離プロセスによって加えられた指向性運動量を有する。本発明によれば、第2ステップでは、この脱離材料が、分光分離を受ける前に内部衝突および周囲との衝突を受けることにより、指向性運動量が少なくとも部分的に熱平衡化され、すなわち方向に関してランダム化され、その全体的な大きさが低減される期間にわたって閉じ込められる。プルーム自体の寸法が小さく、閉込めが、たとえば、プルーム内のアナライト分子が周囲の壁または障害物との少なくとも一回の衝突を受けるような壁間隔を含む、対応する規模のものであることが理解されよう。本発明では、初期領域で低電界強度を与え、加速前にプルームの初期部位付近での滞留時間を延長させる二段イオン抽出を使用して熱平衡化を行うことが意図される。

一般に、本発明は透過照射構成でも、あるいは頂部照射構成でも実施することができる。ただし、基板に対して実際の閉込め構造および加速構造を位置決めする場合にはいくつかの異なる因子を考慮しなければならない。下記で、特にタイムオブフライト質量分析計器を参照して、本発明の代表的な物理的実施形態について説明する。しかし、概略的な説明から明らかなように、本発明はイオントラップや、イオンサイクロトロン共鳴フーリエ変換質量分光計や、低圧でイオンを検出しあるいは特徴付けるために使用されるその他の計器など、他の様々な分析計器用のサンプル入力として使用したときにも、うまく働き性能を顕著に向上させる。

第3A図および第3B図は本発明の基本的な実施形態を示し、図中の要素は、第1図において対応する符号を有する要素に対応する。第3A図に示したように、たとえば、直径が140マイクロメートルまたは200マイクロメートルのコアを有する光ファイバ10を、アナライトを含むマトリックスで構成されたサンプル2が堆積された透明基板3の一面に突き合わせる。この場合、乾燥したマト

リックスが示されている。ファイバ10はその発散出力ビーム1を用いてサンプル2を照射し、脱

離した材料のプルーム4をサンプルから発散させる。さらに第3A図に示したように、閉込め構造20は、その壁に一つまたは複数の出口穴22を有するコンパートメント21をプルーム4の周りに形成する。コンパートメント21の寸法は、照射スポットの寸法に匹敵する寸法で、たとえば10マイクロメートルないし500マイクロメートルであり、プルーム4の範囲と同程度の大きさでよく、したがってプルームは数百ナノ秒以内に膨張しコンパートメントに充満する。

第3A図および第3B図に示した構成は共に、レーザ光が、イオン抽出方向とは逆の方向からサンプルを照射するという点で透過照射構成である。第3A図の構成では、ファイバが底面、すなわち基板に対向する側からサンプルを照射するように、透明基板上に直接サンプルが置かれる。その結果、材料はサンプルの底面から脱離する。サンプル2はたとえば、基板上の厚さが数マイクロメートルの層としての微結晶からなり、プルーム4は主として、結晶の底面（基板に対向する側）から脱離し、向きを変えた後に、突出するプルームの本体を形成する材料からなる。

第3B図は、反射M A L D Iに関するこの実施形態の対応す

る構成を示す。この実施形態では、ファイバと分析チャンバを分離する基板3上にはサンプル2は堆積されず、エンクロージャの壁20上に堆積される。その場合、ファイバ10は、基板を通じ、コンパートメントを構成する小さなギャップを介して、遠い側のサンプルヘビームを放射する。どちらの場合でも、プルーム4は、コンパートメント化された空間21へ膨張する。

第4A図および第4B図は、経時的なプルームのその後の変化を示す。前述のように、プルーム4中の分子の速度は最初、毎秒数百メートル以上程度である。第4A図に示したように、プルーム4はコンパートメント21に充満し、一般にマトリックス分子間の内部衝突およびマトリックス分子とアナライト分子との間の内部衝突と、試料ホルダの壁20との内部衝突を受ける。このため、分子の移

動方向がランダム化され、三つの直交並進モードを超えた様々な自由度を有する分子、通常はタンパク質および大形有機分子の場合、エネルギーを内部で区画し、適切に動作するマックスウェル分布によって平均速度を大幅に低下させることもできる。第4 A図に示したように、分子は、比較的短い拡散時間の後に出穴22に達する。第4 B図は、抽出電界E_{ext}の印加時に穴から加速されているプルーム材料

を示す。したがって、穴22は、少なくとも部分的にランダム化され、好ましくはマックスウェル分布および低平均速度によって完全にランダム化された速度で、所定の寸法の離散開口部を通じてサンプルを与える。この所定の初期条件によって、より鮮鋭に画定されたピークとより少ない広がりとを有する飛行時間スペクトルが得られ、そのため、従来型の計器よりも数倍高いだけでなく質量から独立した計算された質量分解能が得られ、高分子量でのスペクトル画定が大幅に向上的する。

第5 A図および第5 B図は、新規の構成の单一の本体で第1の実施形態の基板およびコンパートメントを置き換えた本発明の第2の実施形態30を示す。この場合、たとえば、分光加速のための一様な電界平坦化導電開始平面を構成する働きをする導電ハウジングまたはジャケット9によって高アスペクト毛細管32が保持される。毛細管の内壁上にサンプル2を付着させる。毛細管はファイバ10の端部を囲み、したがって、ファイバ端部から発散した出力ビームは、サンプル2を照射し、材料のプルームを毛細管の側面から中央ルーメン(lumen)33へ吐出させる。この場合、サンプル2を毛細管の内側の周りのバンドとして被覆した場合、結果的に得られるプルームは自己干渉し、すなわち非常に指向性の強い脱離プルームが半径方向内側へ進み、壁のそれぞれの異なる部分からの材料が他の部分からのプルーム材料と衝突し、そのため小さな毛管体積33内の衝突発生率が高くなる。さらに第5 B図に示したように、抽出電界によって、熱平衡化された材料35のサンプルは、毛管軸を横切る方向に沿って分析計器内へ加速される。

第5A図に示した閉込め構成を頂部照射構成で使用することもできる。その場合、ファイバ10から現れたレーザ光線は好ましくは、前面（すなわち、質量分析器に対向する側）から閉込め構成に進入する焦点を合されたレーザ光線または直径の小さなレーザ光線で置き換えられる。

前述の例から明らかなように、プルームの閉込め構成が完全なエンクロージャである必要はなく、好ましくは、たとえば分子移動方向を変化させ、したがって脱離材料の分子間の衝突によって非常に指向性の強い運動量をより迅速に低減することのできる物理的閉込め構造の壁との少なくとも一回の衝突を含む、脱離材料の衝突相互作用を確保する構成を含むだけでよい。

第6A図および第6B図は、この場合は頂面（すなわち、イオン抽出側）照射向けに構成された他の閉込め構成を示す。前

述のように、符号1、2、3、4はそれぞれ、レーザ照射光線と、サンプルと、サンプルを保持する基板と、脱離によってサンプルから放出されたプルームを指定する。この実施形態では、構造40は、プルーム4の放出経路を横切るバリアまたはオーバハンギング42を備える。オーバハンギング42はたとえば、支持体またはポスト41によって保持された棚またはキャップからなる。オーバハンギング42は完全にサンプル2を覆うわけではなく、差掛のように延び、開放セクタ43によって、サンプル上の小さなスポットに焦点を合されたレーザ光線1の斜め照射が可能である。第6B図に示したように、プルームは次いで、差掛の下方で熱平衡化され、セクタ43を通じて加速され、分析計器に低速イオンを与える。分析計器は、低速イオンを捕捉し、あるいはその点から外側へ加速する。

第3図ないし第6図に示した例などプルーム熱平衡化に関するすべての実施形態で、イオン抽出は、プルーム閉込め構造と質量分析器との間の空間中の適切な電極またはメッシュ、あるいはその両方によって生成されるいくつかの遅延電界および加速電界を実施することによって行うことができる。閉込めに対する電位Uでのそのような一つのメッシュ80が一例として第

3A図に描かれている。遅延電極または抽出電極のすべての電位は、時間変調、

たとえば時間遅延することができる。

前述の構成は、キャップや、カバーや、エンクロージャなどの外部構造が熱平衡化容器を構成する物理的バリアを示しているが、本発明ではさらに、マトリックス自体によって部分的に実施されるより多くの開放構造によって閉込めを行うことが意図される。第7図、第7A図、第7B図は、マトリックス材料の微結晶層から与えられる部分的熱平衡化条件のために透過モード照射構成で熱平衡化が行われることが観測された実験的構成を示す。この装置50では、サンプルを頂部照射できるように第1のファイバF₁を照射し、あるいはサンプルの背面から透過照射を行えるように第2のファイバF₂を照射するようにレーザ源を構成した。サンプルを基板3上に保持し、端面が厳密に質量分析器の軸上に位置決めされたステージによってファイバF₁を保持した。生成されたレーザ光線は、ステージ担体によって制御されるサンプル上の選択された位置に当てられる。第7A図で最も良く分かるように、サンプル2は、分析チャンバに対向する基板の表面上に堆積された数マイクロメートルないし数百マイクロメートルの範囲の最大寸法を有する比較的薄

い微結晶層からなっていた。この場合、プルームのかなりの部分が、結晶の背面、すなわち基板およびファイバに対向する結晶面から、5マイクロメートル以下のギャップを介して放出され、したがって放出された材料が迅速に基板に衝突し、向きを変えてプルーム材料と相互作用し、部分的に熱平衡化された状態のこの脱離材料が分析計器に到着することが判明した。微結晶はランダム構成として配置され、その背面は、全体的な脱離運動量が最初は、頂部照射構成の場合よりも指向性が弱く、分子同士が衝突し脱離プルーム材料の束に変化するにつれて迅速にランダム化されていくように、可変斜め角度に配置される。

さらに第7A図に示したように、ステージ60は、放出加速構成を改良するために基板3の周りにほぼ平坦な電界を与える金属プレート61を含む。照射ファイバF₂はこの平面電極のスロットを通過し、基板3に突き合わされる。ファイバは開口数が多く、サンプルにおいて所定の直径のほぼ均一なビーム形状を与えた。図の実施形態では、この突合せ結合構成がサンプル上で200マイクロメー

トルのスポットを構成するように141mファイバを使用した。第7B図に示したように、サンプルは、簡単なガラス製カバーシート上の微結晶と巨大結晶の

典型的な乾燥堆積物からなっていた。より大きな結晶は寸法が約100mであり、それに対して残りの微結晶はずつと小さく、レーザの最初の作動によって完全に除去された。巨大結晶自体は、角度の組合せ時に基板面に対して自然に配向し、そのため、これらの面からほぼ垂直に入射して放出されるプルームは、迅速に基板に衝突し、基板から離れる方向が阻止され、再びプルーム材料に入り込み、迅速に熱平衡化を受けた。

図を飛ばして第9A図および第9B図を参照すると、閉込め、より正確には強化された衝突相互作用が、多孔性構造または透過構造から与えられる本発明の第4の実施形態70が示されている。この実施形態70では、サンプル2を基板3上に置き、適切なスペーサ72を用いてサンプルの上方に取り付けられた多孔性材料または繊維状材料71のシュラウド(shroud)またはシースで覆う。その場合、プルームの熱平衡化は、適切な電極から与えられる印加電界の有無にかかわらずに多孔性シースまたは繊維状シースを通じたイオンの抽出時に行われる。典型的な構成では、シース71は薄く、たとえば100m以下であり、スペーサ72がサンプルの厚さ程度の自由距離を与える。一例を挙げると、実験室用濾過紙と同様なパルプ・ベースの繊

維状紙は、放出されたプルームを熱平衡化することが判明した。ただし、一般には、この層の材料としてはプルームに反応せず、またプルームを汚染しない材料が選択される。

第9A図に示した実施形態では、前述のように、ファイバ10によって透過構成の光透過性の基板3を通じてサンプルを照射する。第9B図に示した実施形態では、頂部照射構成の焦点を合されたコリメート光線1aによって光透過性または半透明の多孔性シースまたは繊維状シース71を通じてサンプルを照射する。繊維状シースまたは多孔性シース71の適切な材料にはガラス材料と、セラミック材料と、ポリマー材料とが含まれる。水などの液体の洗浄または浄化に使用さ

れるポリマーまたは紙の微孔性膜のガラスフリットもシース71に適している。

代替実施形態(図示せず)では、多孔性材料の底面、すなわち質量分析器から離れる方向に面する側に直接サンプルを置くことができる。この実施形態の他の変形形態では、サンプルを多孔性材料の光透過性シースまたは半透明シースに組み込み、シースの衝突強化多孔性構造内で直接脱離が行われるように本来の場所で照射する。

前述の例は、本発明の一連の実施態様を示すために様々な構

造および本体を用いた熱平衡化を示しており、簡単な機械的要素を使用している。しかし、スクリーンや毛細管など既存の構造から熱平衡化プルーム段を作製する必要はない。局部熱平衡化環境への放出を行うようにサンプルを保持するまったく新しい構造を構想することも可能である。したがって、たとえば基板2は、サンプル2が被覆される計器対向表面に複数の細い針状突起または深いウェルを有するプレートからなる。この場合、レーザから与えられる照射1によって、ピンの側面またはウェルの壁から、周囲の壁または隣接するピンで画定された空間への脱離が行われる。その場合、初期プルーム速度は、基板の全体平面にほぼ平行なものであり、そのためプルームが閉じ込められ、衝突の発生率が高くなり、それに続いて、基板上に形成されたピンまたはウェルの端部で、熱平衡化されたプルーム材料がそれに垂直な平面を横切って放出される。そのようなピンまたはウェルは、既知のマイクロリソグラフィ技法によって適合材料を使用して微細構造として形成することができ、たとえば、さらにサンプルコーム(たとえば、ヘッジホグ(hedgehog)コーム)またはマイクロタイタ(microtiter)プレートとして働くように構成することができ、その場合、事前準備プロセス

の支持体はMALDI分析器の基板として働くことができる。他の新規のマイクロリソグラフィ的な構成を実施して、プルームを変調する有効な衝突空間を形成することは容易である。

本発明の好ましい実施形態は、ファイバが基板3上の選択されたx、y位置を照射しそこから材料を脱離することができるようファイバ担体に関連して構成

されたステージ12上に保持された基板3を用いて実施される。そのようなステージを第8A図および第8B図に示す。第8A図の斜視図に示したように、プレート11から突き出るファイバの端部をステージプレート12の開口部12a内に位置決めするための安定な機械的取付け装置を構成するプレート11に固定されたカラー10aにファイバ10を取り付ける。分析器に注入されるイオンの対称的な分散を決定するために、ファイバ端面を質量分析器の軸上の固定位置に厳密に心合わせする。ステージプレート12を、たとえば従来型のステージ取付け駆動装置およびステッパ駆動装置によって二次元移動できるように真空チャンバ内部に取り付け、基板3上のサンプル2の所望の位置を照射できるようにする。好ましくは、基板3はいくらか導電性で誘電性の薄い材料層を底面（ファイバに対向する側）に有する。この層は、

ステージ12に電気的に接触し、したがってステージと同じ電位に荷電し、それによって基板3の放出表面で平坦な電界を与える。

他の態様では、本発明は、M A L D I 質量分光によってピンツールに含まれる核酸を直接分析することによる核酸配列決定プロセスを含む。好ましい実施形態では、最初に、サンプルから得られた核酸を増幅する。たとえば、ジデオキシヌクレオチド(d/d d NTP)または配列決定プライマを添加せずに「マスター」ミックスのP C R反応を実施することができる。次いで、共役手段を介してアリコートを分離し、たとえば配列決定プレートへ移し、次いでd/d d NTPおよびプライマを添加し、配列決定反応を実施することができる。別法として、P C RをAマスターミックスとCマスターミックスとGマスターミックスとTマスター ミックスとの間で分割することができる。次いで、アリコートを配列決定プレートへ移し配列決定プライマを添加することができる。

たとえば、標準条件を使用したサイクル配列決定反応で0.4pmolないし0.5pmolのP C R生成物を使用し、それによって各P C Rを十回の配列決定反応で使用することができ

る(10×A、C、G、T)。配列決定反応は、標準384マイクロウェルプレ

ート中の 5 pmol ないし 6 pmol の $5'$ 標識配列決定プライマを含む $10 \mu\text{l}$ の体積で実施することができ、そのため最大で96回の配列決定反応が可能である（反応当たり35塩基で3360塩基）。別法として、 12×16 フォーマットの約 $5 \text{ cm} \times 5 \text{ cm}$ の192マイクロウェルプレートを使用することができる。このフォーマットではウェル当たりに最大で48回の配列決定反応が可能である。その結果プレート当たり1680塩基（反応当たり35塩基）となる。配列決定プレートのフォーマットによって移送要素（たとえば、ピンツール）の寸法が決定される。

配列決定プレートのウェルに 4×4 アレイのピンツール（第10図）を取り付け、たとえば、ピンの先端に付着させた官能化ビーズ（ $\geq 1 \text{ pmol}$ 容量）上に、配列決定生成物を取り込むことができる。取込み／インキュベーションステップ時に、ピンを運動させ続け（垂直、 1 mm ないし 2 mm 走行）配列決定反応を混合し、取込みの効率を高めることができる。

別法として、たとえば、第14図に示されるように電界を印加する場合に、核酸をピンツール上に直接取り込むことができる

る。ピンツールに電圧を印加すると、核酸は陽極の方へ引き付けられる。このシステムではまた、未荷電分子が溶液中に残り、正に荷電された分子が陰極に引き付けられるので、核酸が浄化される。具体的には、（電圧の有無にかかわらずに）一本鎖オリゴヌクレオチド（たとえば、長さ約5塩基対ないし12塩基対）を部分的または完全に含むようにピンツールを修正することができる。その場合、ピンに特異的に共役できるのは（たとえば、溶液中の）相補核酸シーケンスだけである。

他の実施形態では、ピンツールの先端にPCRプライマを共役させることができる。固相（ピンツール）結合プライマと溶液中のプライマを用いてPCRを実行することができ、その場合PCR生成物はピンツールに付着する。次いで、増幅生成物を含むピンツールを反応から除去し（たとえば、質量分光によって）分析することができる。

いくつかの異なるピン形態の例を第11図に示す。たとえば、第11a図、第

第11b図、第11c図は、中実ピン構成を示す。第11d図および第11e図は、たとえば質量分光計検出用の光ファイバを収容するための溝または穴が中心を通るピンを示す。このピンは、平坦な先端、またはナノウェル（nanowell）、

凹、凸、円錐台、角錐台を含め、いくつかの構成のうちのどれか（たとえば、寸法は幅 4μ ないし $800\mu \times$ 深さ 100μ ）を有することができる。好ましい実施形態では、個別のピンの長さは約5mmであり、直径は約1mmである。ピンおよび取付けプレートはポリスチレンで作製することができる（たとえば、ワンピース射出成形）。ポリスチレンは官能化するうえで理想的な材料であり、非常に高い公差を用いて成形することができる。ピンツール装置のピンは折りたたみ可能であり（たとえば、挟み状機構によって制御される）、したがってピン同士を近接させ、全体的な寸法を減少することができる。

質量分光による検出では、ピンツールを数回にわたって取り外し、たとえばクエン酸アンモニウムで洗浄し、マトリックスを添加する前にサンプルを調整しておくことができる。たとえば、ピンを単にマトリックス溶液に浸漬させることができる。次いで、マトリックス溶液がピンの先端のみに付着するようにマトリックスの濃度を調整することができる。別法として、ピンツールを反転し、マイクロドロップ装置によってマトリックス溶液を各ピンの先端に噴霧することができる。さらに、マトリックスを添加する前に、生成物をピンからたとえばチップ上のナノウェルに分割しておくことができる。

ピンから直接行う分析の場合、一方式（第12図）では、ピン上にステンレススチール「マスク」プローブを取り付け、次いで質量分光計に設置することができる。

ピンツール装置を収容する二つの分光計構成が第13図で提案されている。第1の構成は固体ピンを収容する。実際には、レーザは材料層を結晶の表面から除去し、その結果得られるイオンは、イオン光学系を通じて加速され焦点を合される。第2の構成は、サンプルが後方からレーザ照射される光ファイバピンを収容する。実際には、レーザはピンツール背面プレートおよび短い光ファイバ（直径

は約 $100\mu\text{m}$ 、長さは背面プレートの厚さを含めると約7mm)に焦点を合される。この構成では、蒸発したサンプルがマトリックス/ピーズミックスの深さを通過し、イオンを減速させかつ冷却し、それによってある種の遅延抽出を行う必要がある。この抽出によって、実際には分析の分解能が向上するはずである。

ピンが取り付けられるプローブは様々な構成のものでよい。たとえば、ピンツールの上方に取り付けられた、各ピンごとに一つの複数の穴を有する大形プローブでよい。アセンブリ全体

は質量分光計のX軸-Y軸に並進させる。別法として、適切な電界を与えられるほど大きいが、ピン同士の間に整合するほど小さな単一の穴を有する固定プローブでもよい。次いでピンツールをすべての三つの軸において並進させ、ピンを順次分析できるように穴に導入する。このフォーマットは(すなわち標準384ウェルマイクロプレートフォーマットに基づく)より大きなピンツールにより適している。前述の二つのプローブは共に、前述の二つの分光計構成に適している。

第15図は、前述のポストバイオロジー取り込みによる質量分光配列決定で使用されるステップを概略的に示すものである。

本発明の基本的な実施形態と、本発明の改良されたレーザ脱離を実施するための代表的な構成についての説明を終わる。本発明を以上のように開示し説明したが、当業者には、他の変形形態および修正形態が思いつくであろう。すべてのそのような変形形態および修正形態は、添付の請求の範囲で定義される本発明の範囲内のものであるとみなされる。

【図1】

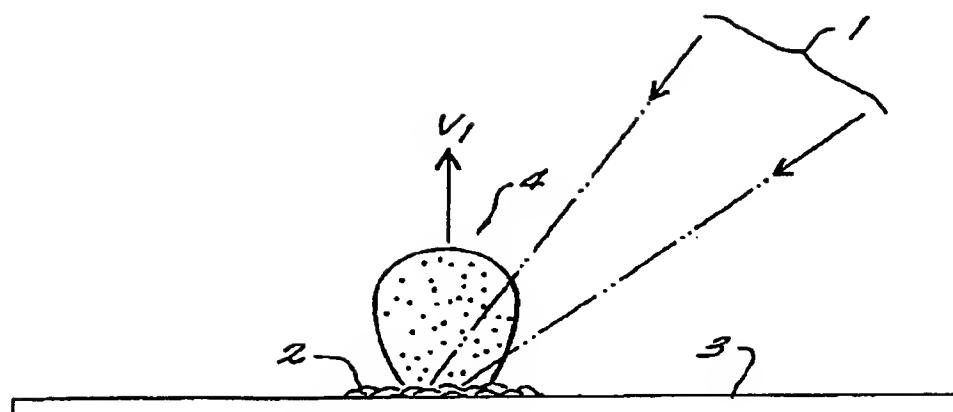


FIG. 1

【図2】

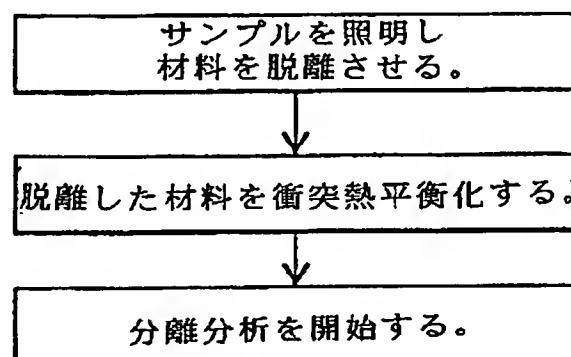


FIG. 2

【図3】

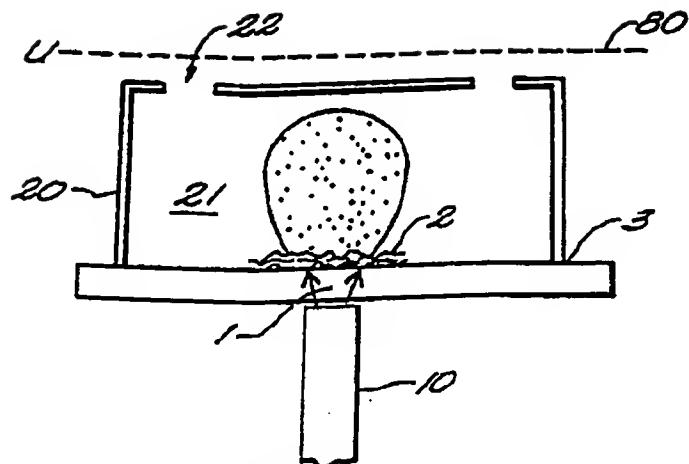


FIG. 3A

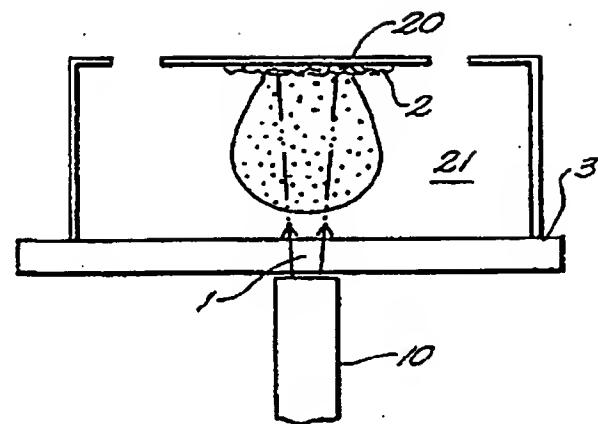


FIG. 3B

【図4】

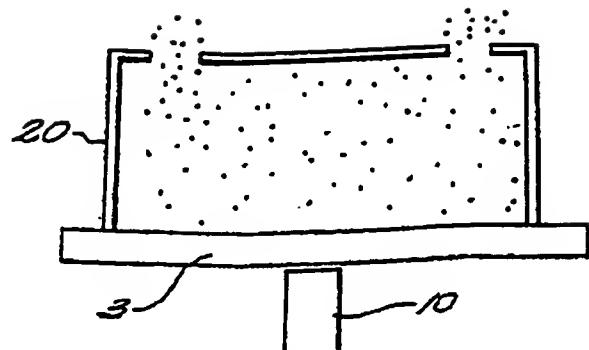


FIG. 4A

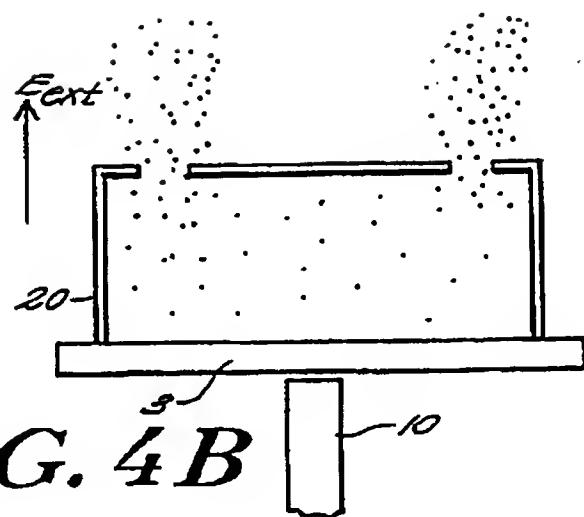


FIG. 4B

【図5】

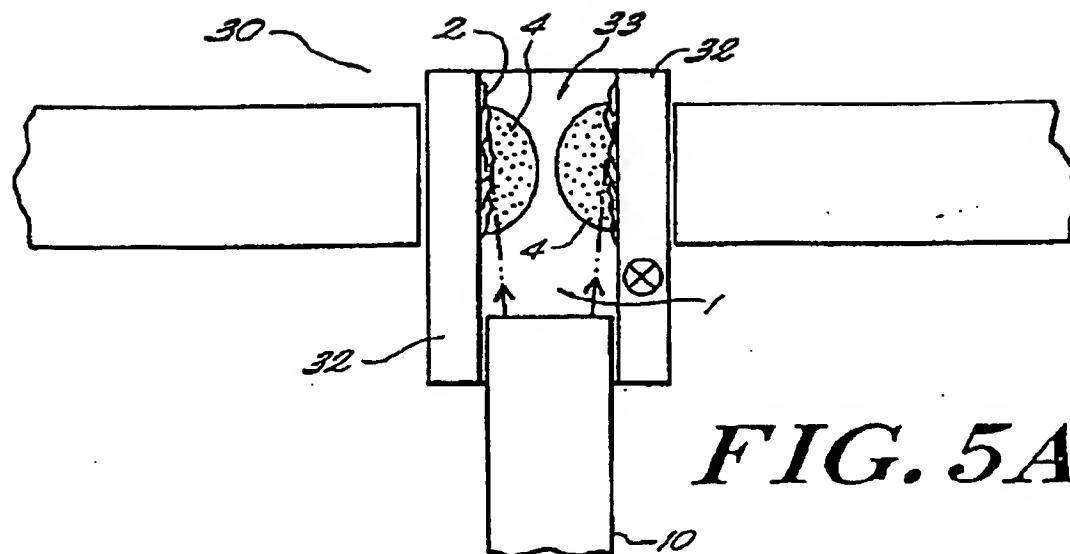


FIG. 5A

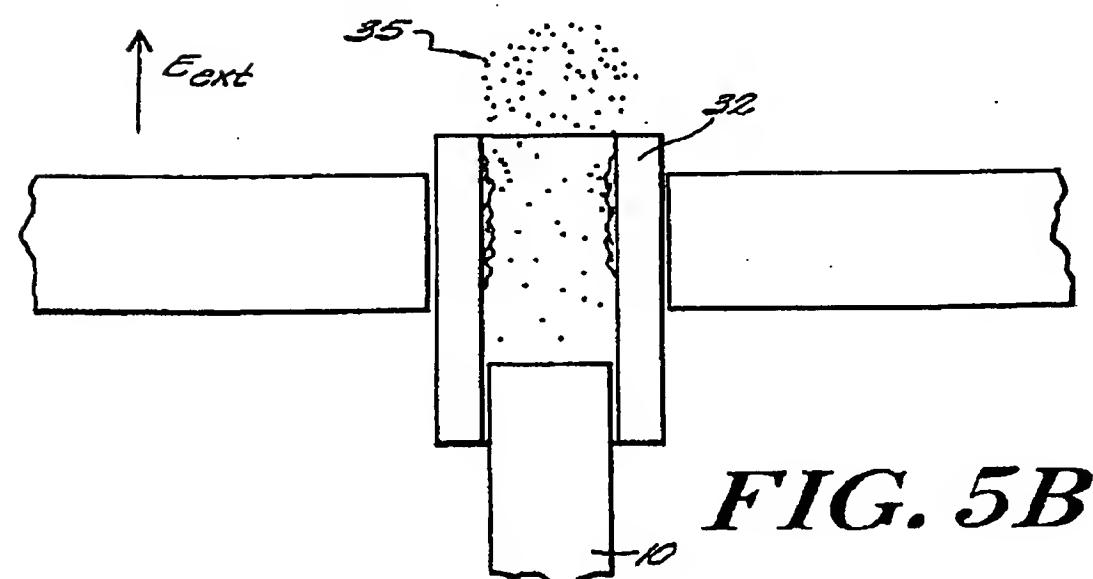


FIG. 5B

【図6】

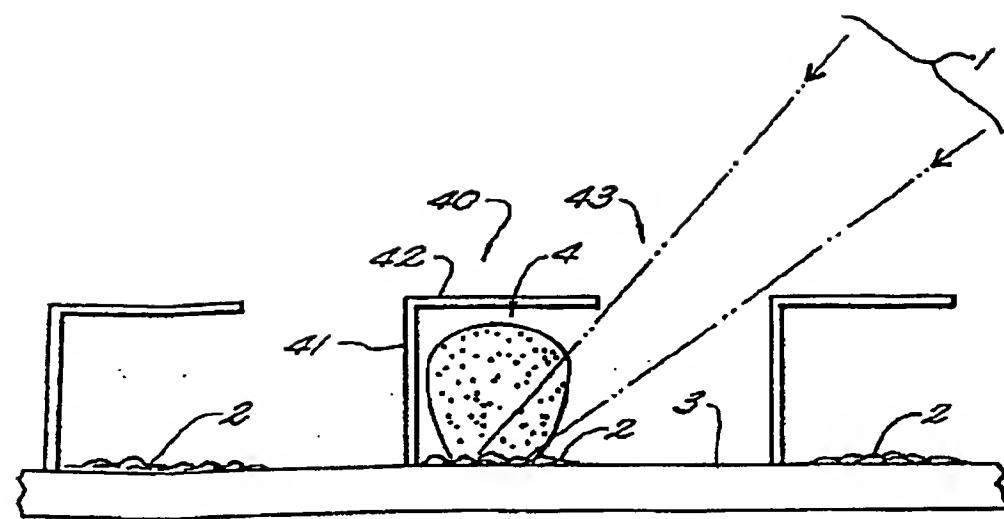


FIG. 6A

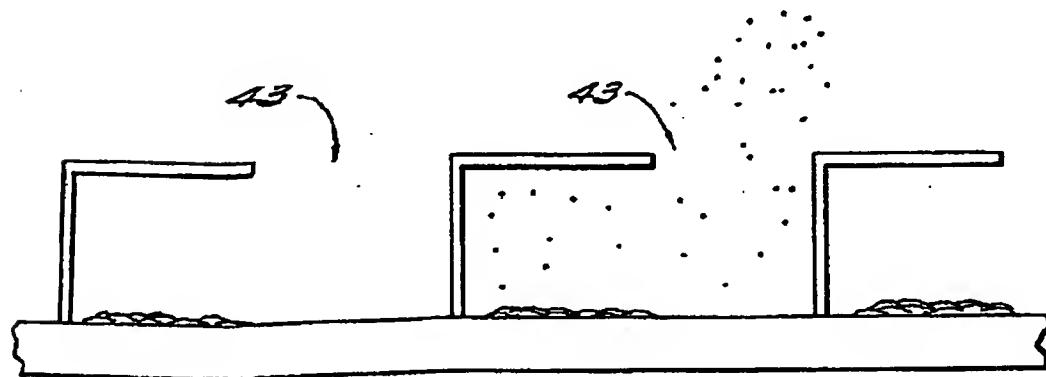


FIG. 6B

【図7】

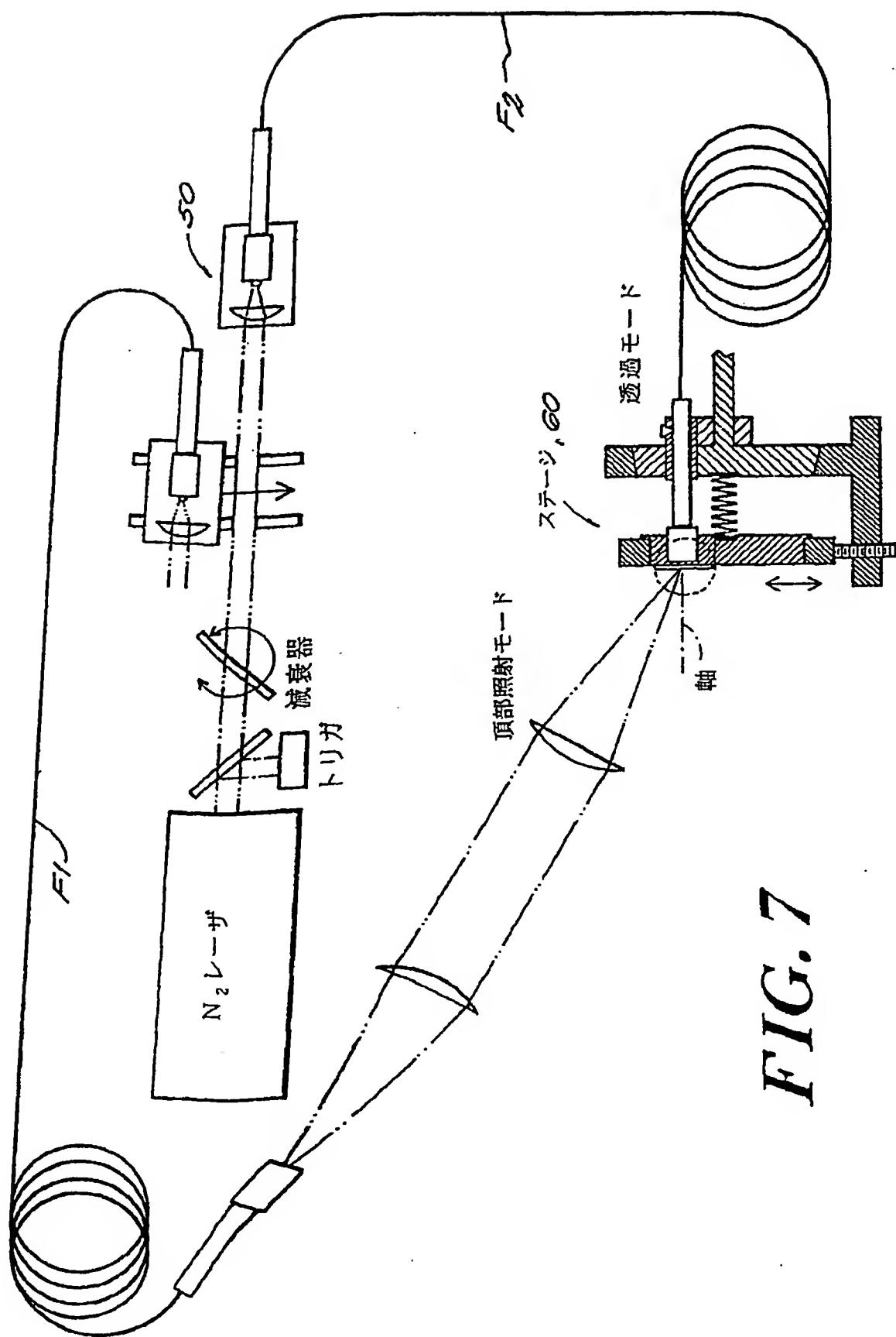


FIG. 7

【図7】

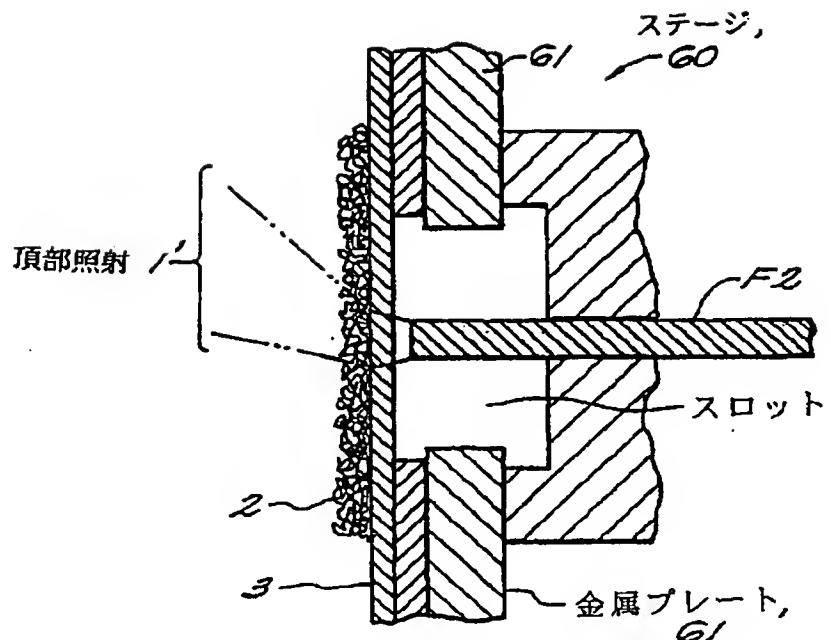


FIG. 7A

【図8】

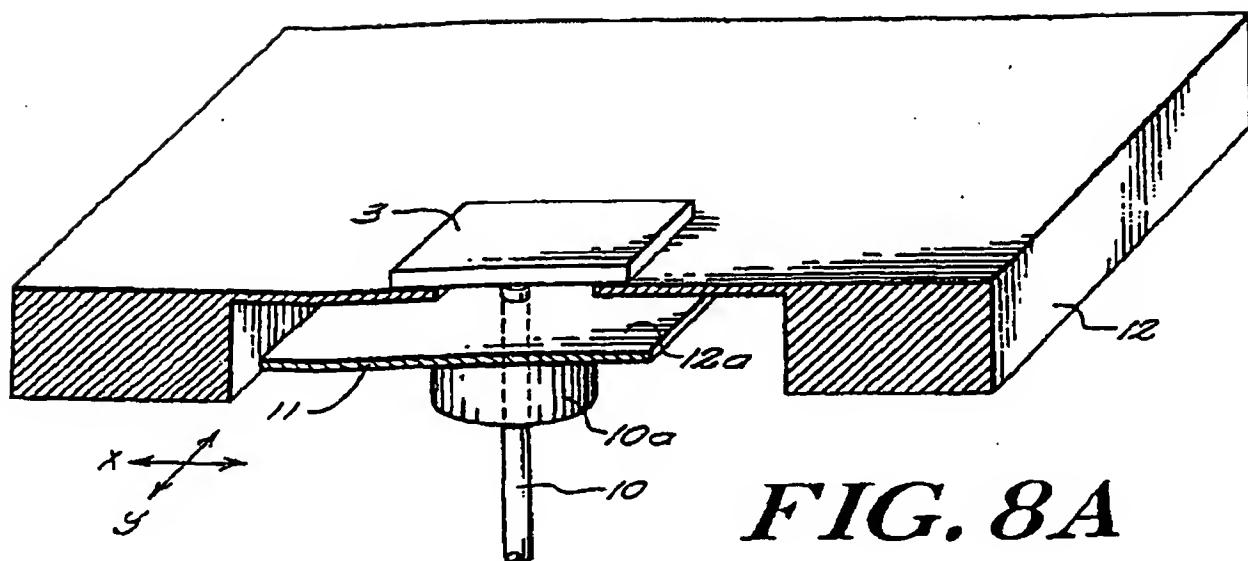


FIG. 8A

【図8】

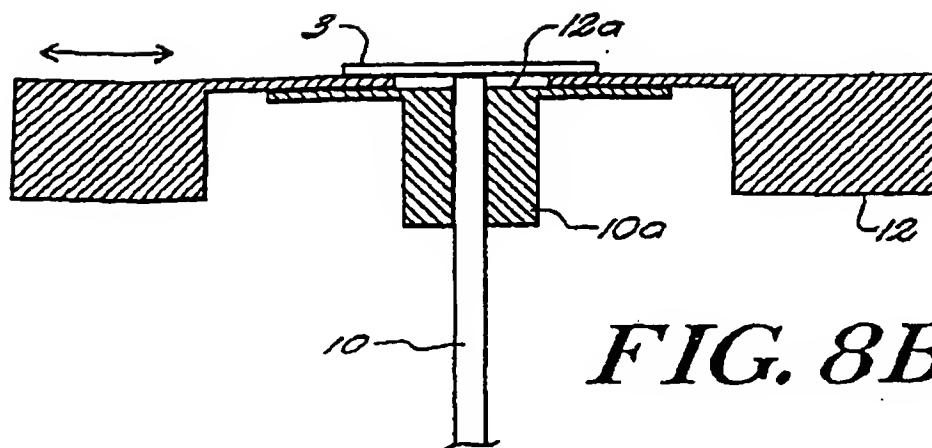


FIG. 8B

【図9】

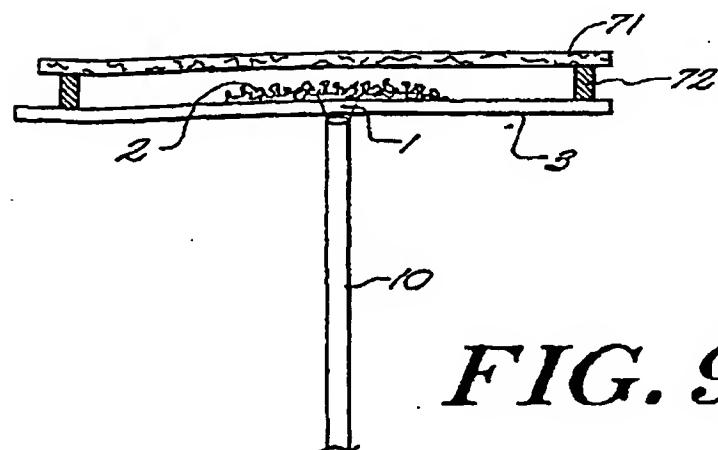


FIG. 9A

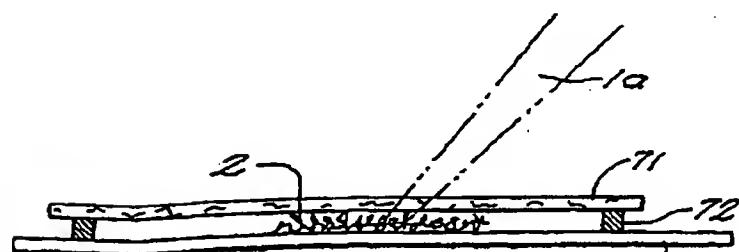
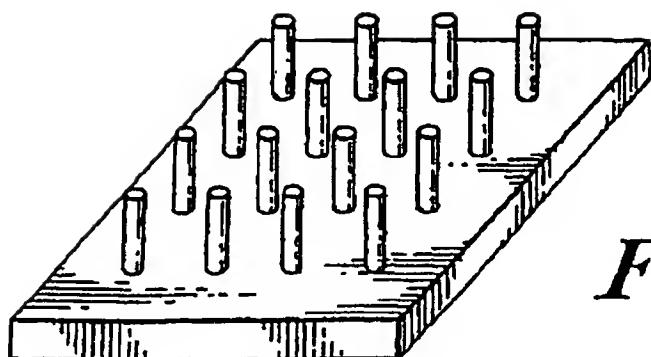
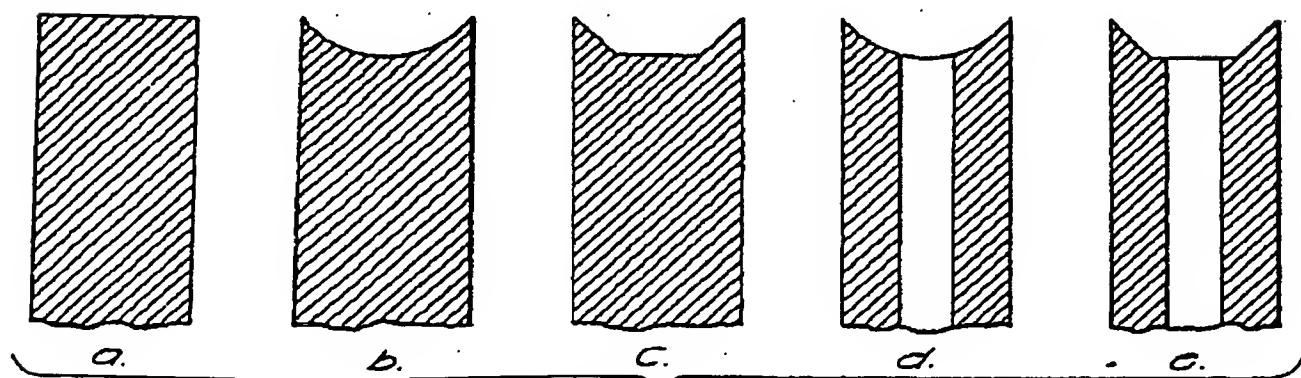


FIG. 9B

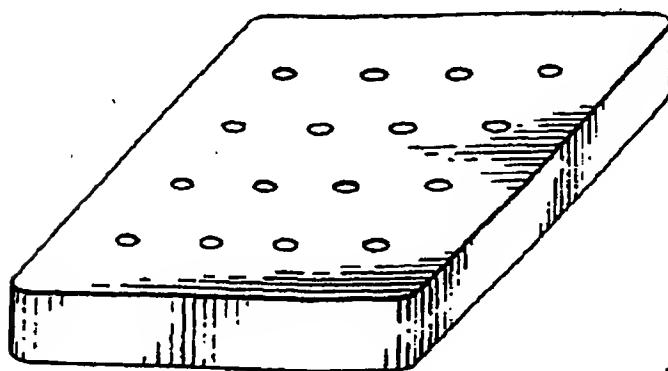
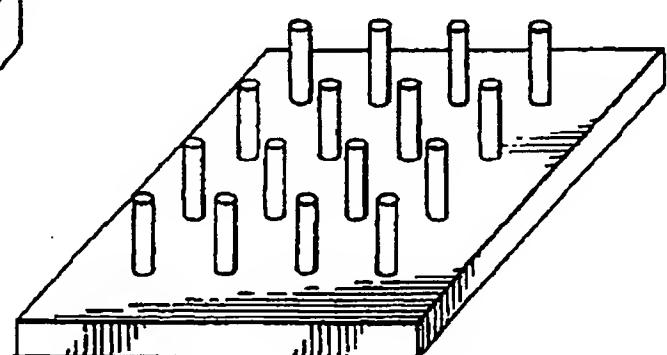
【図10】

*FIG. 10*

【図11】

*FIG. 11*

【図12】

*FIG. 12A**FIG. 12B*

【図12】

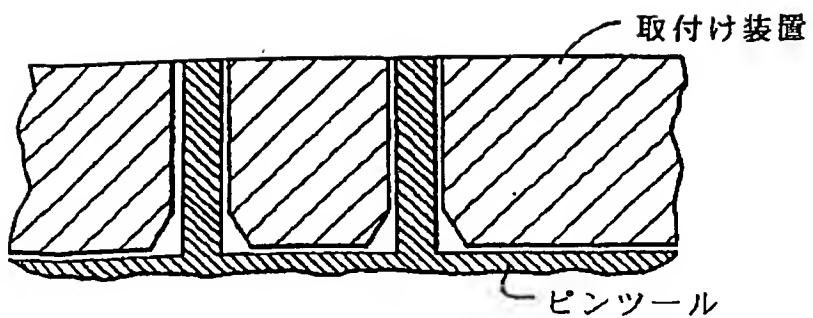


FIG. 12C

【図13】

ピンタイプ, a,b,c.

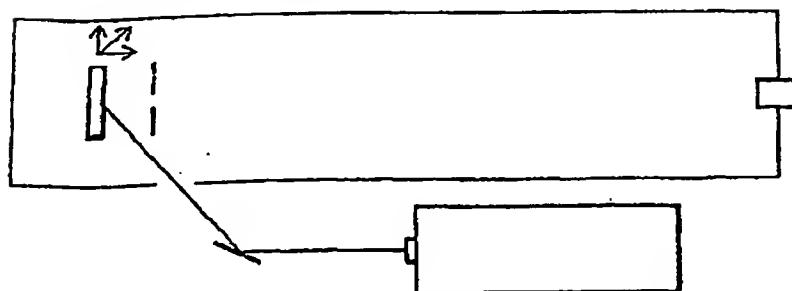


FIG. 13

ピンタイプ d/e

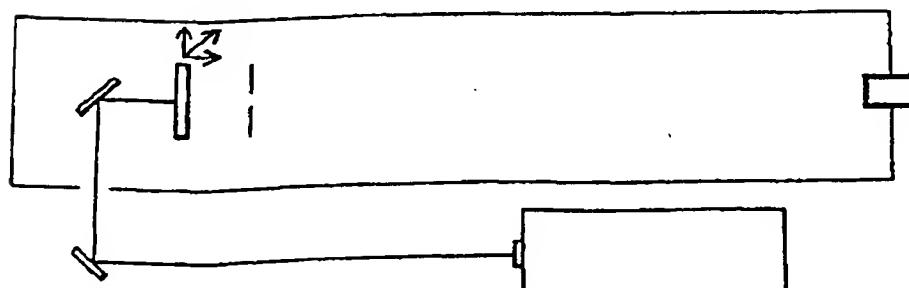
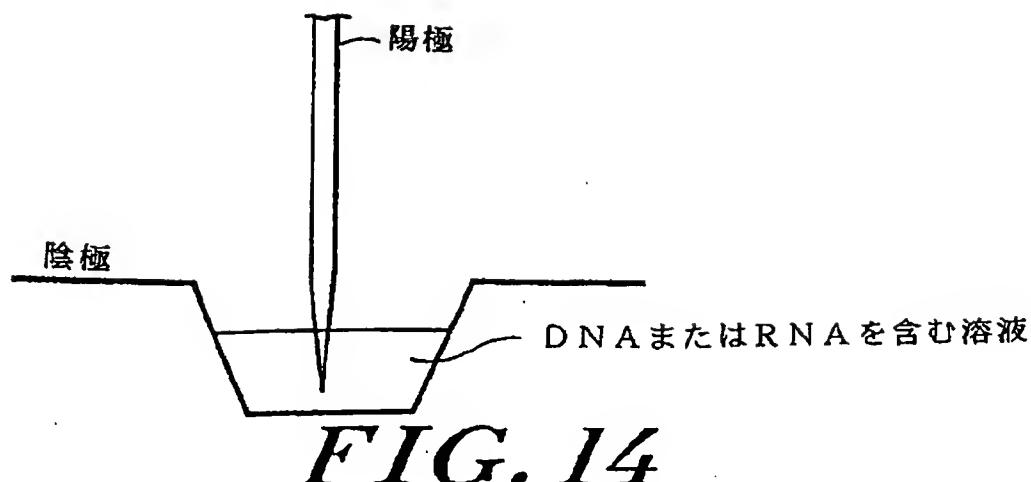


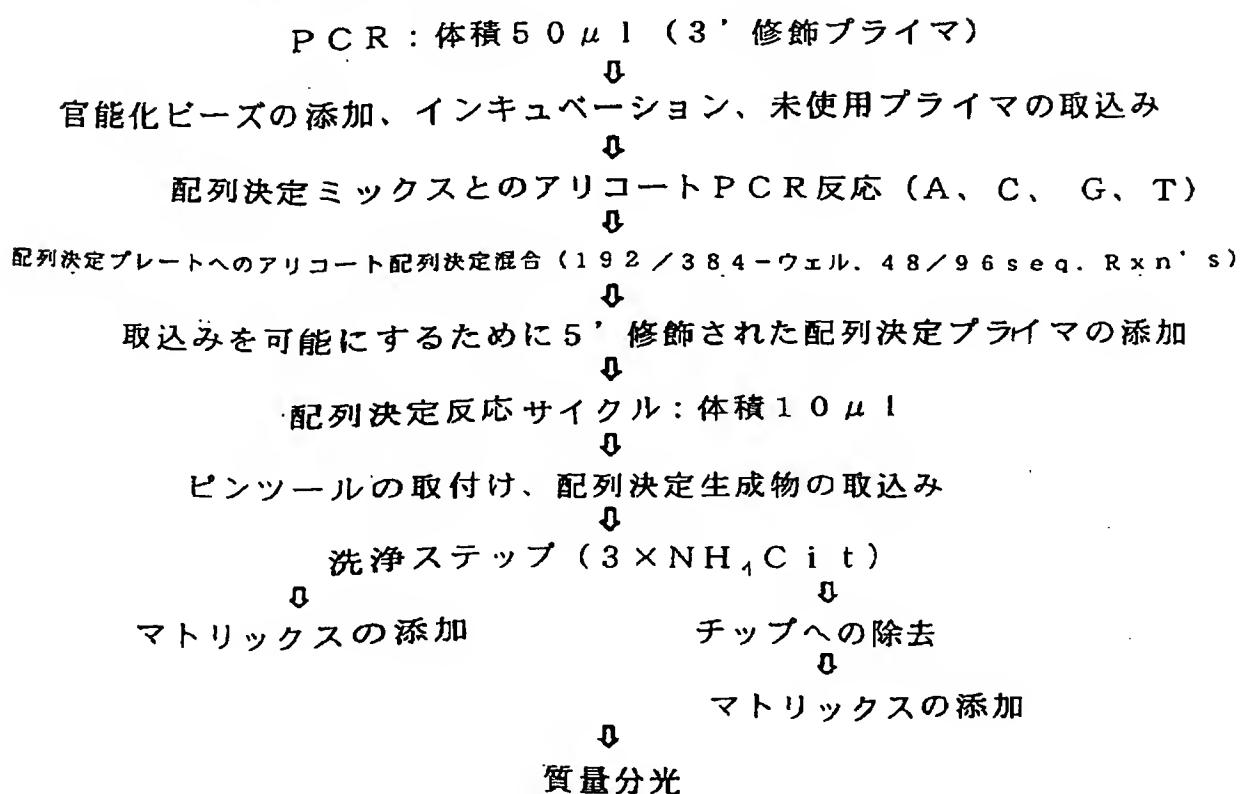
FIG. 13A

【図14】



【図15】

実験流れ図：



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International Application No. PCT/US 97/16115															
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 6 H01J49/16																	
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC																	
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 6 H01J																	
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched																	
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)																	
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: left; padding: 2px;">Category</th> <th style="text-align: left; padding: 2px;">Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</th> <th style="text-align: left; padding: 2px;">Relevant to claim No.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="padding: 2px;">Y</td> <td style="padding: 2px;">US 5 382 793 A (WEINBERGER SCOT R ET AL) 17 January 1995 see column 6, last paragraph - column 7, line 19; figure 3 ----</td> <td style="padding: 2px;">1,13,14</td> </tr> <tr> <td style="padding: 2px;">Y</td> <td style="padding: 2px;">US 5 381 008 A (TANNER SCOTT D ET AL) 10 January 1995 see column 6, line 28 - line 49 ----</td> <td style="padding: 2px;">1,13,14</td> </tr> <tr> <td style="padding: 2px;">X</td> <td style="padding: 2px;">FR 2 597 260 A (UNIV PASTEUR) 16 October 1987 see abstract see page 7, line 25 - line 33 see page 13, line 29 - line 34 see page 15, line 21 - line 31 see page 17, line 29 - line 37 ----</td> <td style="padding: 2px;">20,21</td> </tr> <tr> <td style="padding: 2px;">Y</td> <td style="padding: 2px;">----- -/-</td> <td style="padding: 2px;">22</td> </tr> </tbody> </table>			Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	Y	US 5 382 793 A (WEINBERGER SCOT R ET AL) 17 January 1995 see column 6, last paragraph - column 7, line 19; figure 3 ----	1,13,14	Y	US 5 381 008 A (TANNER SCOTT D ET AL) 10 January 1995 see column 6, line 28 - line 49 ----	1,13,14	X	FR 2 597 260 A (UNIV PASTEUR) 16 October 1987 see abstract see page 7, line 25 - line 33 see page 13, line 29 - line 34 see page 15, line 21 - line 31 see page 17, line 29 - line 37 ----	20,21	Y	----- -/-	22
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.															
Y	US 5 382 793 A (WEINBERGER SCOT R ET AL) 17 January 1995 see column 6, last paragraph - column 7, line 19; figure 3 ----	1,13,14															
Y	US 5 381 008 A (TANNER SCOTT D ET AL) 10 January 1995 see column 6, line 28 - line 49 ----	1,13,14															
X	FR 2 597 260 A (UNIV PASTEUR) 16 October 1987 see abstract see page 7, line 25 - line 33 see page 13, line 29 - line 34 see page 15, line 21 - line 31 see page 17, line 29 - line 37 ----	20,21															
Y	----- -/-	22															
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C.		<input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.															
<small>* Special categories of cited documents :</small> <ul style="list-style-type: none"> "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed 																	
<small>* T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</small>																	
<small>* X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</small>																	
<small>* Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.</small>																	
<small>* &* document member of the same patent family</small>																	
Date of the actual completion of the international search 24 November 1997		Date of mailing of the International search report 28/11/1997															
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patenttaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax. 31 651 epo nl. Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Huine, S															

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int'l Application No.
PCT/US 97/16115

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	DE 32 21 681 A (BAYER AG ;LEYBOLD HERAEUS GMBH & CO KG (DE)) 8 December 1983 see page 12, last paragraph - page 13: figures 5,6 -----	22

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No
PCT/US 97/16115

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5382793 A	17-01-95	EP 0629313 A JP 8501407 T US 5594243 A WO 9318537 A	21-12-94 13-02-96 14-01-97 16-09-93
US 5381008 A	10-01-95	AU 6642894 A CA 2162856 A WO 9427311 A DE 69402191 D DE 69402191 T EP 0698281 A JP 8511897 T US 5565679 A	12-12-94 24-11-94 24-11-94 24-04-97 03-07-97 28-02-96 10-12-96 15-10-96
FR 2597260 A	16-10-87	NONE	
DE 3221681 A	08-12-83	NONE	

フロントページの続き

(81) 指定国 EP(AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AP(GH, KE, LS, MW, SD, SZ, ZW), UA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, HU, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, UZ, VN

(72) 発明者 ヒギンス, スコット

ドイツ国、22880・ベーデル、ハーゼルベ
ーク・1

(72) 発明者 ロー, デイビッド・エム

イギリス国、スコットランド・ティー・ティー・14・55・エイ、バーウィツクシャ
ー、アイマウス、ディーンヘッド・ロー
ド・32

【要約の続き】

態では、照射ファイバの端部の周りの毛細管内に熱平衡化コンパートメントが設けられ、毛細管の円筒形内壁に沿ってサンプルマトリックスが堆積され、したがって、この毛管は、脱離したアナライトを熱平衡化する出口への移動経路を形成する。他の実施形態では、小形の差掛カバープレートまたはオーバハンジングカバープレートまたはせん孔カバープレートの形状を有し、あるいは高アスペクト表面テクスチャを与える微細構造が、放出されたアナライトの熱平衡化を推進するのに必要な閉込めを行う。纖維状材料または透過材料の薄い層またはカバーを使用して質量分析の前にアナライトを熱平衡化しておくこともでき、他の実施形態では、この材料が基板として働くともできる。自動計器は、それぞれの異なる時間に照射され試料上の対応する点アレイからサンプルを吐出させる固定照射ファイバアレイを含むことができる。